

Monti, R. & Monti, A.

= Le ghiandole gastriche delle
Marmotte durant il letargo inver-
nale e l'attività estiva.

HARVARD UNIVERSITY



LIBRARY

OF THE

Museum of Comparative Zoology

NOV 27 1915

43482

Immagio degli archivi

LE GHIANDOLE GASTRICHE DELLE MARMOTTE
DURANTE IL LETARGO INVERNALE E L'ATTIVITÀ ESTIVA

RICERCHE

DI

RINA MONTI

docente di Anatomia comparata

ACHILLE MONTI

professore nell'Università di Pavia



LIBRARY
UNIVERSITY OF CALIFORNIA
1000 UNIVERSITY AVENUE
LOS ANGELES, CALIF. 90024

NOV 27 1915

DAL GABINETTO DI ANATOMIA COMPARATA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA

LE GHIANDOLE GASTRICHE DELLE MARMOTTE

DURANTE IL LETARGO INVERNALE E L'ATTIVITÀ ESTIVA

RICERCHE

DI

RINA MONTI

docente di Anatomia comparata

ACHILLE MONTI

professore nell'Università di Pavia

(tavole 8 e 9)

I.

Introduzione.

La mucosa gastrica della marmotta, per quanto noi sappiamo, non è ancora stata studiata nella sua minuta struttura. E poichè dai numerosi lavori, molto bene riassunti dall'Oppel (14), risulta che non solo la forma dello stomaco, ma anche la costituzione della mucosa presenta differenze da specie a specie, così ne parve non inutile riferire le nostre osservazioni come contributo all'anatomia comparata.

D'altra parte abbiamo giudicato degno di particolare attenzione lo studio rivolto a determinare se e quali variazioni, rispetto all'attività estiva, presentano le cellule secernenti delle ghiandole gastriche nella completa inerzia del letargo, quando la produzione di calore è nulla, la temperatura del corpo è uguale a quella dell'ambiente, la vita è come sospesa.

È evidente che tali ricerche, oltre ad un interesse speciale per lo studio degli animali ibernanti, debbono avere un'importanza generale, perchè possono condurci alla soluzione di taluni problemi tuttora discussi nel campo dell'istologia e della fisiologia.

II.

Cenno storico.

L'anatomia generale delle ghiandole gastriche è stata oggetto di numerosissime ricerche. Per farne un riassunto analitico occorrerebbe un volume; occurrebbe già molte pagine il semplice indice dei lavori. L'Oppel (14) ha compendiato con rara diligenza tutta la letteratura fino al 1896 nel suo magistrale trattato, e noi ci limiteremo ad un cenno sommario che ci servirà per impostare le questioni da noi studiate.

La storia delle indagini sulla costituzione delle ghiandole gastriche si può distinguere in due periodi.

Il *primo periodo* è caratterizzato dalla scoperta di due tipi di cellule ghiandolari - cellule principali e cellule intercalari - dovuta al Koelliker (1), a Rud. Heidenhain (2) ed al Rollett (3). Tale scoperta, confermata e completata da molti osservatori, ha sollevato interessanti questioni istologiche e fisiologiche. Molti autori hanno ritenuto che le due categorie di cellule non fossero altro che il diverso modo di presentarsi di un'unica specie di elementi, a seconda che si trovavano in riposo od in attività funzionale (Edinger, Trinkler, Pilliet, ecc.). Altri hanno ammesso che esistesse una differenza tra le due sorta di cellule, ma che le une fossero le generatrici delle altre (Glinsky, Kupfer, Bikfalvi, ecc.). Rud. Heidenhain, per molto tempo, rimase solo a sostenere la specificità cellulare e la differenza funzionale delle cellule principali e delle intercalari. Lo Heidenhain in seguito ad ingegnose esperienze fu condotto ad affermare che le cellule intercalari secernono acido cloridrico, e le cellule principali elaborano la pepsina. Il Langley (4, 5) mediante finissime osservazioni, ha accertato che le cellule principali nel riposo appaiono piene di granuli rifrangenti destinati a scomparire durante la secrezione. Poiché la mucosa è tanto più ricca di pepsina quanto più abbondanti sono i granuli, così è facile concludere che i granuli sono i generatori della pepsina. Per altro, secondo lo stesso Langley, i granuli pepsinogeni sono alterabilissimi: visibili facilmente a fresco, vengono disciolti dagli ordinari reattivi. Così avviene che, nei preparati conservati, le cellule principali appaiono più chiare delle cellule di rivestimento ed il loro protoplasma si presenta reticolare.

Il *secondo periodo* della storia delle nostre cognizioni intorno alle cellule secernenti è caratterizzato dalla scoperta di Erik Müller (8), il quale applicando il metodo del Golgi, dimostrò l'esistenza di un reticolo canalicolare in rapporto con le cellule intercalari. La scoperta del Müller venne confermata dallo stesso Golgi (12), il quale ritenne che le descritte vie di secrezione formassero essenzialmente un canestro pericellulare, e per il primo rilevò delle differenze funzionali nelle vie di

secrezione, in quanto durante la digestione esse appaiono più ampie e più ricche. Ma il Müller, già nella sua memoria completa (9), ha fatto rilevare che i canalicoli sono - almeno in parte - endocellulari; ed in un lavoro citologico (10) più recente, applicando il metodo della ematossilina ferrica, è venuto alla conclusione che sono spazi intracellulari senza pareti proprie. Analoghi risultati ha ottenuto lo Zimmermann (11) in una pregevolissima memoria contemporanea all'ultima del Müller.

Che le vie di secrezione fossero endocellulari era lecito supporlo, prima di questi studi, in base ad una osservazione del Bizzozzero (7), il quale, nello stomaco di cane normale, ha notato la costante presenza di uno spirillo dentro certi vacuoli delle cellule parietali.

Allo stesso Bizzozzero (6) noi dobbiamo anche osservazioni importanti sulla genesi dell'epitelio delle fossette gastriche e delle ghiandole gastriche. Il Bizzozzero cioè ha dimostrato la costante presenza di nuclei in cariocinesi in fondo alle fossette, e nel colletto ghiandolare. Le cariocinesi del fondo delle fossette costituiscono il centro germinativo dell'epitelio muciparo, che si sposta gradatamente dalle fossette verso la superficie della mucosa. Le cariocinesi del colletto formano il centro di proliferazione degli elementi ghiandolari, e secondo l'Ascoli (17) tale focolaio, semplice nella regione pilorica, è duplice nella regione del fondo, ove gli elementi ghiandolari sono distinti in due specie diverse.

Circa l'interpretazione dei fatti osservati si agitano però ancora non poche controversie. Il Von Brunn (13), per esempio, ritiene che le fine vie di secrezione non sieno canali preformati, ma soltanto l'espressione di accidentali correnti di secreto sorprese dalla fissazione. Questa idea rimette sul tappeto molte delle questioni già accennate circa la struttura e le origini delle cellule delomorfe. Qualche autore dubita della specificità cellulare di questi elementi, altri non crede ancora abbastanza dimostrato che i reticoli canalicolari sieno esclusivamente endocellulari. Infine molti dubbi si agitano ancora intorno all'attività funzionale dei due tipi cellulari.

Alla soluzione di siffatti problemi porteranno certo un contributo le nostre osservazioni, che per maggiore chiarezza esporremo in distinti paragrafi.

III.

Tecnica.

Per lo studio della mucosa gastrica delle marmotte noi ci siamo procurati sedici animali vivi dalla valle d'Aosta, e li abbiamo uccisi, in periodi diversi di letargo invernale o di attività estiva col metodo della puntura del midollo allungato.

I procedimenti di fissazione e di colorazione impiegati furono i seguenti:

1. - *Metodo del Golgi*. — Piccoli pezzi di parete gastrica presa particolarmente in corrispondenza della regione del fondo venivano fissati nella nota miscela di bicromato potassa al 3 % (parti 8) ed acido osmico all'1 % (parti 2). Dopo due giorni di immersione in miscela, si cominciavano i passaggi in nitrato d'argento e si seguiva per più giorni.

Risultati ancora migliori si sono conseguiti col metodo del ringiovanimento, che presenta anche il vantaggio di poter ottenere la reazione quando si voglia, anche su pezzi fissati primitivamente in miscela osmio-bicromica e conservati per lungo tempo in semplice bicromato.

Il ringiovanimento venne da noi applicato nel modo seguente:

a) immersione dei pezzi vecchi in soluzione satura di solfato di rame filtrata e diluita a metà.

In questo liquido i pezzi si lasciano da 5 a 6 giorni, cambiando il liquido ogni giorno.

b) dal solfato di rame i pezzi si portano in miscela osmica fresca, composta di bicromato al 3 % parte 9 acido osmico 1 % parti 1.

c) dopo 24 ore di immersione in miscela osmica si cominciano i passaggi quotidiani in nitrato d'argento al 0,75 %.

L'impregnazione dei canalicoli comincia nei pezzi stati nel bagno per 24 ore e continua fino oltre il decimo giorno. Per lo studio delle vie di secrezione si possono fare anche rapide inclusioni in paraffina.

2. - *Metodo Golgi-Zimmermann*. — I pezzi trattati per la reazione nera del Golgi, inclusi in paraffina, vengono sezionati col microtomo. Le sezioni incollate sul porta oggetti si sparaffinano, si passano in alcool, poi si portano in

a) una miscela così composta:

Soluzione di Cl. Na. al 0,75 %	parti 10
Alcool a 96	» 20

In questo liquido si lasciano le sezioni per 10 minuti, poi

b) si portano in alcool e si lasciano alla luce diffusa per 1 giorno.

c) si colorano con tionina oppure con safranina.

La fissazione dei pezzi impregnati col metodo Golgi si può anche fare col solfuro ammonico, adoperando 2 o 3 gocce di solfuro ammonico sciolto in 20 cmc. d'alcool assoluto.

Si lascia agire questo liquido per mezz'ora agitando continuamente il vaso. Poi si passa in alcool, e si colora con tionina o con ematossilina.

Entrambi i procedimenti sono di esito alquanto incerto, in quanto danno luogo spesso a precipitati. Non mancano però nei preparati dei punti molto dimostrativi.

3. - Noi abbiamo trovato utilissimo un metodo, che ha analogia da una parte con quello di Altmann, e d'altra parte con quello di Galeotti.

Ecco in che cosa consiste:

a) pezzi fissati in miscela osmica, come per il metodo Golgi, vengono lavati per 24 ore in acqua corrente, poi passati nella serie degli alcool ed inclusi in paraffina.

b) Le sezioni incollate sul vetrino, sparaffinate e ripassate nelle serie discendente degli alcool, si colorano per 24 ore in soluzione satura acquosa di rubina.

c) si lava in acqua, si immergono le sezioni per pochi secondi in una miscela di alcool comune e soluzione satura acquosa di acido picrico a parti uguali; si lava di nuovo in acqua.

d) si fa una seconda colorazione con verde di metile acquoso al 0,5 %, lasciando agire il colore per un tempo variabile da pochi secondi a mezzo minuto.

Con questo metodo si ottengono colorati in verde i nuclei, in rosso le granulazioni cellulari, e specialmente quelle delle cellule delomorfe, in grigio verdastro il protoplasma.

Questa colorazione fornisce risultati brillantissimi, ma i preparati non si conservano al di là di qualche settimana.

4. - *Metodo Galeotti*. — Pezzi fissati in liquido del Hermann: colorazione delle sezioni in soluzione satura di fucsina acida in acqua d'anilina, si riscalda il colorante fino a 60°, si lava in acqua, si decolora in alcool picrico per pochi secondi, si lava di nuovo in acqua, si fa la seconda colorazione con verde metile (1/2 g.) in soluzione idro-alcoolica (50 %).

Con questo metodo si ha una colorazione che è quasi l'inversa di quella che si ottiene col metodo da noi descritto. Infatti si hanno nuclei e granulazioni rosse, protoplasma giallognolo, mucina verde.

5. - Per ottenere colorazioni differenziali tra le cellule delomorfe e le adelmorfe, abbiamo trovato utile i seguenti procedimenti:

a) *fissazione* in sublimato di Heidenhain, o meglio in un liquido così composto:

alcool assoluto	cmc.	60
cloroformio	»	30
acido acetico	»	10
sublimato	gr.	7.

In questo liquido i pezzi si lasciano da poche ore a 24 ore, poi si passano in alcool assoluto e si possono includere con risparmio di tempo. Se l'immersione nella miscela fu prolungata, conviene aggiungere qualche goccia di iodio all'alcool assoluto per allontanare il sublimato, i pezzi si passano poi una seconda volta in alcool assoluto puro.

b) Buona colorazione doppia si può ottenere con emallume Mayer e rosso Congo, facendo agire successivamente le due tinture, e più a lungo la prima.

c) Sui pezzi fissati, come abbiamo detto sopra, si può applicare con vantaggio la colorazione con la miscela triacida del Biondi.

d) Per gli studi strutturali la colorazione principe è l'ematossilina ferrica di Heidenhain, con successiva colorazione mediante la fucsina acida.

Dopo avere avviata la decolorazione coll'allume ferrico, si può allontanare rapidamente questo e continuare lo scoloramento mediante la miscela del Van Gieson, che dà un colore rosso brillante alle cellule delomorfe.

IV.

Anatomia generale della mucosa gastrica nella marmotta.

Come è noto, secondo il Töpfer, la morfologia dello stomaco nei diversi generi di rosicanti si può distinguere in tre tipi diversi.

I lagomorfi e gli istricomorfi hanno uno stomaco semplice con due regioni ghiandolari, la sinistra più grande occupata da ghiandole peptiche, mentre le ghiandole piloriche sono limitate a destra ad un tratto più piccolo, denominato porzione pilorica. Negli sciuromorfi le ghiandole peptiche sono d'ordinario molto più ridotte intorno al cardias, invece guadagnano notevolmente in estensione le ghiandole piloriche. Si notano però sensibili differenze nei diversi generi. Nei miomorfi abbiamo la divisione del sacco gastrico in due cavità, una delle quali, la sinistra è una dilatazione dell'esofago: la cavità destra presenta tre regioni ghiandolari, il territorio delle ghiandole del cardias, quello delle ghiandole piloriche, e quello delle ghiandole peptiche o ghiandole gastriche propriamente dette.

La marmotta (*Arctomys marmota* Schreb.) appartiene al gruppo degli sciuromorfi, ed il tipo del suo stomaco si avvicina di più a quello dello *Sciurus vulgaris*.

Infatti non si trova nella marmotta una vera e propria zona di ghiandole del cardias. Si trovano invece una estesa regione di ghiandole del fondo o ghiandole gastriche proprie, ed una molto più ristretta regione delle ghiandole piloriche.

Dall'esofago, che presenta un epitelio pavimentoso stratificato molto alto, si passa alla vasta regione delle ghiandole del fondo, quasi direttamente. Diciamo quasi perchè, proprio in corrispondenza del cardias, si trova un sottile anello ghiandolare, i cui pochi e bassi tuboli sono privi di cellule delomorfe. Ma subito dopo comincia l'ampia regione del fondo, le cui ghiandole possiedono due sorta di elementi. Però da principio, nella zona più prossima all'esofago, le ghiandole sono basse e larghe, hanno fossette profonde e tuboli ghiandolari molto brevi. Le fossette presentano un epitelio muciparo con elementi molti alti: i tuboli dimo-

strano cellule principali pure molto alte, con nucleo schiacciato sul fondo, e protoplasma assai chiaro, reticolare a larghe maglie. Le cellule delomorfe sono in piccolissimo numero, non arrivano mai a contatto col lume ghiandolare, sono vere cellule parietali addossate alla membrana propria.

Ma di mano in mano che si procede verso la grande curvatura le ghiandole si fanno più lunghe, e raggiungono in media da μ 430 a μ 500.

Le cellule delomorfe diventano numerose, e si alternano colle principali nei due terzi superiori del tubolo ghiandolare propriamente detto; nel terzo inferiore invece, cioè verso il fondo cieco del tubolo, prevalgono le cellule principali e sono più scarse le intercalari (tav. 9 fig. 8). Le cellule principali diventano più basse, hanno forma prismatica ed appaiono granulose nella marmotta in letargo.

La regione pilorica è assai poco estesa, occupa soltanto il tratto più ristretto dello stomaco vicino al piloro, e contiene ghiandole con cellule di un solo tipo, tutte prismatiche, ma poco alte, con protoplasma reticolare nella marmotta sveglia, granuloso nella marmotta ibernante.

I tuboli ghiandolari sono spesso ramificati, tanto nella regione pilorica, come nella regione del fondo. In questa si trovano anche dei tuboli anastomizzati, formanti singole maglie chiuse. Questo fatto si dimostra facilmente nei preparati eseguiti colla impregnazione nera. Si può osservare cioè che un tubolo ghiandolare si divide in due rami, che poi si riuniscono di nuovo in un tronco unico, il quale alla sua volta può dar luogo a diverticoli a fondo cieco, oppure a nuovi rami, che tornano ad anastomizzarsi (tav. 8, fig. 2). In qualche caso due tubi si riuniscono e si dividono di nuovo parecchie volte di seguito, sempre fornendo qualche diverticolo laterale a fondo cieco. Più raramente si osservano anastomosi di parecchi tubi tra di loro. Questo fatto delle anastomosi dei tubi ghiandolari venne già descritto da uno di noi (15) nei vertebrati inferiori e specialmente in pesci: nei mammiferi era stato messo in evidenza fin' ora soltanto nel cavallo per opera dello Zimmermann (11).

Parecchi tuboli sboccano in una sola fossetta gastrica. L'epitelio delle fossette gastriche consta di alte cellule mucipare, le quali si riempiono sempre più abbondantemente di muco, di mano in mano che procedono dal fondo verso la superficie libera.

Le cellule dei tuboli delle ghiandole piloriche e le cellule principali delle ghiandole peptiche si distinguono nettamente dall'epitelio delle fossette perchè non contengono muco, sono più basse ed hanno un protoplasma reticolare nelle cui maglie durante il riposo si notano dei granuli.

Nelle sezioni esattamente longitudinali non si osservano alternanze di cellule mucipare, con cellule ghiandolari: le cellule mucipare cessano al fondo delle fossette dove incominciano gli elementi specifici. In corrispondenza del colletto di ciascun tubolo le cellule ghiandolari sono più piccole, e nella marmotta sveglia mostrano frequentemente delle figure cariocinetiche. Altre figure cariocinetiche

si osservano, anche più spesso, nelle adiacenti cellule mucipare del fondo delle fossette. In altri termini si osserva anche quì quello che molto bene ha rilevato Carlo Ascoli (17) in altri mammiferi: il fatto cioè che i colletti ghiandolari costituiscono la zona degli elementi giovani, i centri germinativi dei diversi tipi cellulari nell'animale adulto. Ma le cariocinesi, particolarmente frequenti nelle marmotte da poco risvegliate, mancano affatto nelle marmotte in letargo. Nella mucosa gastrica di queste tutti i nuclei si presentano in perfetto riposo; il rinnovamento dell'epitelio è sospeso, come è sospeso il ricambio materiale e l'attività funzionale. Un'altra differenza generale che si nota nelle ghiandole gastriche, a seconda che si tratta di marmotta in letargo o di marmotta sveglia, è la differente posizione delle cellule delomorfe. Nella marmotta sveglia le cellule delomorfe, specialmente nei due terzi inferiori del tubolo sono veramente parietali, come proiettate al di fuori della parete unita formata dalle cellule principali, e sporgenti a guisa di ampolle sotto la membrana propria (tav. 9 fig. 8).

Nel letargo invece le cellule delomorfe sono veramente intercalari, si trovano cioè, interposte alle cellule principali sullo stesso piano (tav. 9 fig. 7).

Questa differenza fra l'attività ed il riposo dimostra come la posizione delle cellule delomorfe non dipenda già da particolari condizioni di sviluppo, come riteneva il Toldt, ma sia invece soltanto l'effetto della attività funzionale, come giustamente ha ritenuto l'Ascoli (17). Risulta anzi che lo spostamento e le sporgenze delle adelomorfe non è un carattere stabile, come l'Ascoli stesso ha creduto, ma un carattere che può variare largamente in rapporto colla maggiore o minore funzionalità.

V.

Le vie di secrezione nell'attività e nel riposo.

Gli studi di Erik Müller tosto confermati dal Golgi, hanno dimostrato le vie di secrezione delle ghiandole gastriche e precisamente hanno accertato l'esistenza di un reticolo canalicolare annesso alle cellule delomorfe, e comunicante col lume principale della ghiandola, per mezzo di uno o più tronchi trasversali. Secondo i primi studi del Müller e del Golgi, il canestro di capillari secernenti doveva ritenersi pericellulare, ma poi il Müller con altre ricerche dimostrò che gli accennati canalicoli non sono soltanto intercellulari, ma anche endocellulari, - e tale fatto venne anche confermato da uno di noi a proposito delle ghiandole gastriche di altre classi di vertebrati.

Tuttavia, secondo le ricerche fin qui pubblicate dagli autori, risulta che i capillari di secrezione gastrica non hanno una disposizione perfettamente simile in tutti i mammiferi. Erik Müller ha descritto in particolare i capillari secernenti

del cane, del gatto, del maiale. Lo Zimmermann ha studiato più specialmente quelli del cavallo, dell'uomo, del cane e del gatto, il Golgi quelli del coniglio. Quest'ultimo poi ha dimostrato che nel coniglio vi sono notevoli differenze, a seconda che lo stomaco trovasi in attività od in riposo.

Il von Brunn (13) ha ritenuto che i canestri canalicolari non costituiscano una formazione persistente della cellula delomorfa, ma sieno l'effetto casuale di correnti di secrezione; dovrebbero pertanto mancare completamente nel riposo assoluto della cellula.

Lo studio dei citosolenuli, o canalicoli endocellulari di secrezione, durante l'attività od il riposo, parve a noi si potesse fare con molto vantaggio su le marmotte prese nei periodi di attività estiva e di letargo invernale. Nel letargo noi dovremo trovare l'espressione del riposo assoluto delle cellule delomorfe in contrasto colla loro struttura durante il periodo di quasi continua attività estiva. Questo studio potrà anche risolvere una questione che fin'ora è rimasta senza risposta, la questione cioè se i citosolenuli sieno soltanto l'espressione passeggera del fenomeno di secrezione, o sieno invece una disposizione particolare e costante della cellula delomorfa.

Vie di secrezione durante l'attività. — Tanto col metodo rapido della reazione nera, quanto col metodo del ringiovanimento è facile ottenere l'impregnazione dei citosolenuli e del lume ghiandolare. Il metodo lento non ci ha mai dato risultati: anche la miscela di bicromato e formalina ci risultò molto inferiore alle miscele osmiche. La reazione cromo-argentina si ottiene già dopo un giorno di immersione nella miscela osmio-bicromica, e si continua poi, specialmente su i pezzi previamente trattati col metodo del ringiovanimento, fino oltre al decimo giorno. Pertanto lo studio delle vie di secrezione nelle marmotte sveglie riesce notevolmente facile. Specialmente su i pezzi ringiovaniti e lasciati maturare per 3-4 giorni in miscela, si ottengono delle impregnazioni quasi complete. I preparati riescono allora elegantissimi - la fossetta gastrica appare come un imbuto nero, del diametro medio di 30-35 μ .; - il colletto si presenta molto sottile e qualche volta si biforca in due, tre rami, che si continua in due o tre ghiandole. Il lume della ghiandola appare come uno stelo nero, più o meno tortuoso od ondulato, con rigonfiamenti talora lievi, altra volta notevoli, spesso indiviso, altra volta, dopo breve cammino, biforcuto in due tronchi secondari, più raramente si notano ulteriori biforcazioni in rami di terzo ordine. L'intera ghiandola ricorda una spiga, il cui stelo porta per mezzo di tanti peduncoli dei piccoli canestri, talvolta tondeggianti, ma più spesso triangolari, a lati ricurvi (tav. 8, fig. 1-2). Ciascun canestro corrisponde evidentemente ad una cellula delomorfa, e consta di una fina rete di canalicoli con maglie molto ristrette e numerose, talvolta con rigonfiamenti nei punti nodali della rete.

Verso il centro della cellula si riconosce uno spazio relativamente largo, per-

fettamente libero; ma per quanto i canalicoli o citosolenuli si mantengono prevalentemente alla periferia del corpo cellulare, è facile riconoscere che essi si trovano in diversi piani. Il peduncolo, che unisce il canestro canalicolare al lume della ghiandola, è più spesso unico, raramente duplice. Il diametro del peduncolo è vario da μ 1.5 a μ 3. Pure variabile molto è la sua lunghezza, che oscilla da pochi micromillimetri a 8-10 μ . Arrivato in vicinanza della cellula, il peduncolo di solito si allarga e poi si divide in due, tre, quattro rami, che subito si innestano nella rete canalicolare, formante il canestro dei citosolenuli, i quali hanno pure un diametro variabile e più spesso misurano circa $\frac{1}{2}$ -1 μ . Già in questi preparati non è raro il caso in cui si può riconoscere il contorno della cellula delomorfa al di fuori del canestro. Da ciò nasce subito l'idea che il canestro sia endocellulare.

Ma su questo punto ritorneremo in seguito: ora vogliamo mettere in contrapposto coi risultati dianzi descritti, quelli ottenuti invece sullo stomaco delle marmotte in letargo.

Via di secrezione durante il letargo. — Le nostre osservazioni furono compiute sopra marmotte rimaste in letargo per due tre ed anche cinque mesi, e che durante questo periodo si erano svegliate assai raramente, e non avevano mai preso nè cibo, nè bevanda. Gli stomaci non contenevano tracce di alimenti, ma solo poco liquido acido, che noi abbiamo già studiato in altro lavoro (16). I preparati fissati in miscela osmica o ringiovaniti, dettero i migliori risultati quando vennero passati in nitrato d'argento dopo il 2° od il terzo giorno di immersione in miscela osmic-bicromica. L'aspetto delle vie di secrezione appare qui molto diverso, e la differenza salta subito all'occhio. Non si vedono più gli eleganti canestri turgidi e sporgenti, attaccati in gran numero al loro stelo robusto, formato dal lume ghiandolare impregnato: qui appaiono invece più spiccati i dotti centrali delle ghiandole, e intorno a quelli, che sembrano rami spogliati dall'inverno, appaiono soltanto come piccole appendici, gli avanzi inariditi dei citosolenuli (tav. 8, fig. 3). Le fossette gastriche sono ancora imbutiformi ed il loro diametro è circa di 12-14 μ . Il colletto è sempre ristrettissimo, il lume della ghiandola appare molto irregolare di diametro, con stringimenti molto notevoli, veri strozzamenti, e poi dei rigonfiamenti più spesso fusiformi, talvolta ovoidali, con variazioni di diametro da 1 μ a 6 μ .

Qui, ancora più facilmente che non in preparati di ghiandole in attività, si possono riconoscere le biforcazioni dei tuboli e le anastomosi che abbiamo descritto. Di solito quando il tubolo si divide in due tronchi, questi hanno un calibro molto più esiguo.

Lo stelo, costituito dal lume ghiandolare impregnato, in corrispondenza delle cellule adelomorfe porta dei rametti trasversali corti ed esili, che spesso terminano dopo brevissimo cammino rigonfiati a clava. La lunghezza del peduncolo della

clava è alquanto variabile, invece è quasi costante la posizione trasversale di essa rispetto all'asse longitudinale della ghiandola. Qualche volta le clave invece di essere delimitate da un contorno netto, presentano due o tre brevi appendici secondarie molto sottili, che si affondano nelle cellule delomorfe. Altre volte, invece di piccole clave si osservano dei delicati anelli, formati da un esile canalino di calibro alquanto mutevole, racchiudente uno spazio molto ampio. La foggia di questi anelli è variabilissima: possono essere tondeggianti, ovali, triangolari, rettangolari (tav. 8, fig. 4, 5, 6). Quando gli anelli sono molti allungati possono presentare una corda che li attraversa e divide la cavità racchiusa in due archi disuguali. Non di rado l'anello è duplice, in quanto che ad un grosso anello principale aderisce un piccolo anello secondario. Infine abbiamo potuto trovare anelli doppi collegati tra loro da branche intermedie. Gli anelli canalicolari al pari delle clave portano non di rado delle corte e tozze appendici. Infine si possono ancora vedere taluni anelli che presentano poche appendici anastomizzate fra di loro, formando maglie tondeggianti ed irregolari, racchiudenti spazi abbastanza larghi. È questo l'accento meno lontano al complesso canestro canalicolare, che abbiamo descritto nel periodo di attività.

Dunque nella inazione completa dello stomaco le vie di secrezione delle cellule delomorfe si riducono ai minimi termini, ma non possiamo dire che scompaiano del tutto. Durante il letargo le cellule delomorfe sono in completo riposo, e perciò se i citosolenuli fossero semplicemente delle vie momentanee e variabili, formatesi nella cellula per opera stessa dei succhi in essa elaborati, dovrebbero totalmente scomparire nel prolungato digiuno e nell'inazione assoluta degli elementi secernenti durante l'ipotermia invernale. Invece qualche parte dei citosolenuli permane, e questa ci fa pensare come le vie di secrezione debbano essere persistenti, e per così dire preformate, chiuse soltanto dall'avvicinarsi delle diverse parti della cellula quando è cessata completamente l'attività secretoria.

VI.

Rapporto dei canalicoli di secrezione col corpo cellulare.

Abbiamo detto che secondo il Golgi le vie di secrezione delle cellule delomorfe costituiscono in massima una rete canalicolare pericellulare.

Lo Stöhr nel suo trattato (ultima edizione) ammette dei canalicoli pericellulari ed altri endocellulari.

Questa opinione, un tempo condivisa anche da Erik Müller, venne poi da questo stesso autore rigettata. Oggi il Müller nel coniglio, nel ratto e nel gatto ha dimostrato che i canalicoli sono intracellulari: e secondo lo Zimmermann sono

completamente intracellulari anche le vie di secrezione delle cellule delomorfe del cavallo, del cane e dell'uomo. La questione, a parer nostro, meritava di essere particolarmente studiata nella marmotta, date le sue speciali abitudini di vita.

A meglio illustrare i rapporti dei citosolenuli colle cellule delomorfe nella attività e nel riposo, abbiamo applicato con molta costanza i diversi metodi di colorazione doppia, descritti nel paragrafo della tecnica.

Nessuno dei metodi impiegati fornisce delle preparazioni complete, perchè la fissazione della impregnazione argentea non riesce costantemente ed ugualmente in tutti i preparati. Non di rado la reazione scompare in molti punti e lascia il posto a dei precipitati costituiti da minute granulazioni. Tuttavia in altri punti la reazione si fissa e permette le colorazioni successive; grazie a queste può risolversi senza controversia il problema della posizione dei canestri, e si possono chiarire le differenze che passano tra le ghiandole in attività e quelle in riposo.

Nelle ghiandole gastriche in attività è facile riconoscere che i descritti canestri sono sicuramente e totalmente endocellulari (tav. 9 fig. 3). Al di fuori del canestro trovasi ancora un alone protoplasmatico abbastanza largo: i citosolenuli costituenti il canestro sono scavati entro il protoplasma stesso, e giacciono in quello stato che trovasi tra il nucleo e la superficie cellulare. Il nucleo (o i nuclei, poichè talvolta sono due) è situato d'ordinario nel centro del canestro, e, per quanto rimanga seminascondito dalla rete canalicolare, pure tuttavia si riconosce facilmente, ed in taluni casi si dimostra circondato da un alone più o meno sottile di protoplasma privo di citosolenuli; in casi più rari qualcuno di questi si addossa alla superficie del nucleo. Dove i citosolenuli si raccolgono nel canalino collettore, che costituisce il peduncolo del canestro, si riconosce ancora non difficilmente il contorno della cellula, e si può accertare che almeno il primo tratto del peduncolo è ancora intracellulare. In nessun caso abbiamo trovato dei canalicoli, che uscissero dal corpo cellulare, o che fossero comunque interposti tra la cellula e la membrana propria della ghiandola. Né si trovarono canalicoli interposti tra le cellule delomorfe e le adelomorfe.

Rimane dunque dimostrato che nella marmotta le prime vie di secrezione delle cellule delomorfe sono costituite da canalicoli o citosolenuli endocellulari.

Se vogliamo ora istituire un confronto tra le ghiandole gastriche descritte e quelle della marmotta in letargo, dobbiamo subito far notare che in quest'ultima i preparati fissati colla miscela osmica non permettono di distinguere le cellule delomorfe dalle adelomorfe, se non perchè nelle prime si trovano gli anelli e le clave canalicolari che abbiamo descritto nel paragrafo precedente. Qualche volta non è facile distinguere nettamente neppure i limiti fra cellule adiacenti (tav. 9 fig. 6). Nei preparati dove si è riusciti a fissare la reazione cromo-argentea ed a sovrapporvi una seconda colorazione, è facile vedere come gli anelli canalicolari sieno totalmente endocellulari, e quasi sempre abbraccino il nucleo, stringendolo piuttosto da vicino, qualche volta anzi sono in parti addossati al nucleo stesso

mentre all'esterno del cingolo canalicolare rimane un tratto notevole di protoplasma cellulare, denso e privo di qualsiasi lacuna. Abbiamo visto come talvolta i canalicoli anulari delle cellule delomorfe in letargo presentino corte appendici o piccoli archi secondari. Queste si estendono nel grande alone protoplasmatico esterno, ma non arrivano mai fino alla periferia della cellula.

Là dove in luogo di anelli, si osservano solo le clave, queste più spesso terminano col loro rigonfiamento nel corpo cellulare in vicinanza del nucleo, che può trovarsi più esterno rispetto all'asse della ghiandola, ma può trovarsi anche a lato della clava come sospinto verso il lume ghiandolare, mentre la clava è deviata o più o meno incurvata. Quando le clave portano piccole appendici, queste divergono ai lati del nucleo, ma non giungono mai alla periferia del protoplasma cellulare.

Da queste osservazioni risulta che anche nella marmotta in letargo le cellule delomorfe presentano, sia pure molto ridotte, le vie di secrezioni intracellulari. Dobbiamo dunque ritenere che i citosolenuli delle cellule delomorfe non sieno già l'espressione passeggera e fugace della secrezione, ma sieno delle vie costanti scavate entro il protoplasma, che si mantengono, almeno in gran parte, anche durante l'assoluta inerzia.

VII.

Struttura e differenze strutturali delle cellule delomorfe nell'attività e nel riposo.

Nello stomaco in attività della marmotta sveglia le cellule delomorfe si distinguono bene dalle adelomorfe, soprattutto nei preparati fissati con sublimato o con la miscela del Carnoy addizionata di sublimato, che noi abbiamo indicato nella parte tecnica, specialmente quando si faccia la doppia colorazione con ematossilina e rosso Congo, oppure si impieghi la miscela triacida del Biondi.

Nell'un caso e nell'altro si riconosce subito come il corpo delle cellule delomorfe sia occupato da fini granuli uniformi, che si colorano bene in rosso e che sono disposti in cumuli compatti, ma distinti, e separati tra loro da interstizi che rimangono chiari, vuoti. In altri termini anche con questi metodi è facile confermare i risultati conseguiti colla reazione cromoargentrica, e riconoscere le vie di secrezione endocellulari. Nei preparati ben riusciti i citosolenuli si riconoscono perfettamente come piccoli canali scavati nella massa granulosa del corpo cellulare, privi di pareti proprie (tav. 9 fig. 8). È facile comprendere come con questo metodo non si abbiano a riconoscere tutte quante le fine vie intracellulari di secrezione: spesso si distingue bene soltanto un anello canalicolare che forma la parte più periferica del canestro; altre volte però si intravedono dei canalicoli

secondari che si anastomizzano coll'anello principale, e non di rado si possono dimostrare numerosi canalicoli più fini, che percorrono il protoplasma cellulare in diverso senso (tav. 9 fig. 8) e ricordano abbastanza bene i canestri messi in evidenza dalla reazione cromoargentica.

Erik Müller nella seconda serie de' suoi studi sulle ghiandole, ha già riconosciuto questo fatto, e l'ha messo bene in evidenza col metodo della ematosilina ferrica, specialmente nel coniglio e nel ratto bianco. In detti animali, secondo il Müller, ed anche secondo le nostre osservazioni, i granuli delle cellule delomorfe si colorano bene in azzurro colla ematosilina ferrica; e la colorazione dei granuli permette facilmente di dimostrare gli interposti citosolenuli.

Invece nella marmotta i granuli delle cellule delomorfe si scolorano molto facilmente nei preparati trattati con ematosilina ferrica, specialmente quando i pezzi furono fissati in liquidi a base di sublimato.

Poiché i citosolenuli appaiono ben fissati e ben dimostrabili colla reazione cromo-argentica, noi abbiamo pensato che la fissazione in miscela osmio-bicromica potesse fornire qualche vantaggio per la dimostrazione dei canalicoli, anche in preparati colorati coi metodi ordinari, e così siamo venuti nell'idea di tentare diverse colorazioni sui pezzi fissati in miscele osmiche.

È noto che, secondo molti autori, le miscele osmiche non sono adatte per lo studio delle ghiandole gastriche, in quanto non permettono le colorazioni differenzianti le cellule delomorfe dalle adelomorfe. Dopo una lunga serie di tentativi, noi abbiamo trovato dei metodi che hanno raggiunto perfettamente lo scopo. Sulle sezioni di pezzi fissati con miscele osmiche, colorati da prima per ventiquattro ore in una soluzione satura di rubina, poi decolorati con soluzione picrica idro-alcoolica, noi abbiamo ottenuto tutti i nuclei colorati in verde, colorato pure in verde pallido lo stroma delle cellule principali, tinti invece in rosso i granuli delle cellule parietali. (tav. 9, fig. 1 e 2).

Questi preparati sono di un effetto magnifico.

Le cellule delomorfe dimostrano d'avere un ectoplasma ben distinto, che forma una membrana limitante della cellula, e si colora in verde: le vie intracellulari di secrezione si riconoscono bene come spazi talora canalicolari, talora vacuolari, variamente anastomizzati tra di loro; che dividono i granuli in tanti cumuli o campi distinti. I peduncoli o condotti escretori delle cellule delomorfe appaiono in parte formati dalla membrana ectoplasmatica della cellula stessa, in parte dall'ectoplasma delle adiacenti cellule principali.

Anche con questo metodo risulta più che mai evidente come i citosolenuli sieno canalicoli scavati nello spessore della cellula delomorfa, e privi di una distinta parete propria.

Molto simili ed altrettanto eleganti sono i preparati che si ottengono col metodo del Galeotti, che ha una certa analogia col procedimento da noi impiegato.

Quando si applichi la tecnica indicata dal Galeotti si ottengono colorati in

rosso tutti i nuclei ed i granuli delle cellule delomorfe, mentre invece si colora in verde sporco il protoplasma reticolare delle cellule principali. Anche in questi preparati le vie di secrezione intracellulari delle cellule delomorfe si dimostrano colla massima evidenza: l'un metodo serve di controprova all'altro e la concordia dei risultati ottenuti non lascia più luogo a dubbi od a obiezioni.

Nello stomaco inerte della marmotta in letargo le cellule delomorfe si presentano con un aspetto notevolmente diverso. Abbiamo già detto come tali cellule appaiono quì molto più piccole, come le vie di secrezione, dimostrabili colla reazione cromoargentica, si presentino molto ridotte. Nei pezzi fissati in miscele a base di sublimato le cellule delomorfe si distinguono molto bene dalle cellule principali, poichè, quando si faccia la doppia colorazione con ematossilina e Congo, le prime appaiono piene di granuli rossi, le seconde, cioè le principali, presentano nn protoplasma reticolare colorato in viola pallido. La differenza è così spiccata che già a debole ingrandimento le due categorie di cellule si distinguono al primo colpo d'occhio.

Il fatto di tali differenze costante nella marmotta in letargo, quando cioè la vita è per così dire sospesa e l'attività cellulare è nulla, o per lo meno ridotta ai minimi termini, risolve in modo perentorio e definitivo una questione che un tempo fu molto dibattuta: dimostra cioè che le cellule delomorfe non derivano da una trasformazione delle cellule principali, ma sono elementi specifici assolutamente indipendenti, e perfettamente stabili.

Se si esaminano gli stessi preparati a più forte ingrandimento (tav. 9 fig. 7) non è difficile riconoscere che le cellule delomorfe non sporgono più sotto la membrana propria, ma sono allo stesso livello delle cellule principali; il loro protoplasma è molto più compatto che non nel periodo di attività, quasi fosse una spugna prosciugata e retratta. Talvolta nel corpo cellulare non si riconosce più traccia nè di canalicoli, nè di vacuoli, ma più spesso è facile osservare come dal canale centrale della ghiandola partono dei diverticoli ciascuno dei quali si affonda nel corpo di una cellula delomorfa e si rigonfia a clava. Più raramente si può vedere un' accenno di cingolo o di anello canalicolare, che passa intorno al nucleo. In altri termini si ha quì la controprova dei fatti dimostrati colla reazione cromoargentica. Quando si osservano i vacuoli claviformi questi appaiono notevolmente ampi rispetto al corpo cellulare: sembra in certo modo che il protoplasma retraendosi e prosciugandosi, mentre da una parte ha occluso le più fine vie intracellulari, d'altra parte ha dato luogo ad una dilatazione del canale escretore, o peduncolo del canestro.

Risultati analoghi si ottengono applicando la reazione triacida del Biondi, la quale pure concede di distinguere le cellule delomorfe dalle principali per una diversa gradazione di colore e per l'aspetto granulare delle prime. Anche col metodo Biondi non si notano differenze tra i nuclei dell'una e dell'altra categoria di cellule. Si possono pure bene dimostrare i diverticoli a clava intracellulari o

più raramente ad anello che dal lume della ghiandola si spingono entro le cellule delomorfe.

Degni di particolare attenzione sono i risultati che si ottengono applicando alla mucosa gastrica della marmotta in letargo, fissata con bicromato ed acido osmico, la colorazione doppia con rubina e verde metile (tav. 9 fig. 4).

Le cellule delomorfe, che appaiono anche qui molto più piccole che non durante l'attività e come sospinte verso il lume ghiandolare, lasciano ancora riconoscere di essere munite di una membrana ectoplasmatica colorabile in verde: nel corpo cellulare si trova una massa di granuli rossi, minuti, uniformi, non così fittamente addossati tra di loro, come nelle cellule in attività, e in certo modo cementati insieme da una pasta fondamentale che non lascia riconoscere una distinta struttura, e si colora debolmente in verde grigio.

Talvolta nel bel mezzo del corpo cellulare si trova un largo vacuolo tondeggiante od ovale: altre volte il vacuolo si prolunga in un canalino, che sbocca nel lume della ghiandola. Dunque anche questo metodo conferma l'esistenza degli spazi e canalicoli intracellulari privi di parete propria, persistenti, almeno in parte anche durante il letargo.

Ma il fatto più notevole che con questo metodo si dimostra è il diversissimo contegno delle cellule principali, le quali appaiono esse pure disseminate di numerosi granuli, così che, a prima vista, non riesce facile distinguere le due categorie di cellule gastriche. — Questa osservazione ne porta a studiare la struttura delle cellule principali nella attività e nel riposo.

VIII.

Differenze strutturali delle cellule adelomorfe in attività ed in riposo.

Nella marmotta sveglia, uccisa in piena digestione, le ghiandole gastriche fissate in liquidi a base di sublimato, mentre presentano le cellule delomorfe turgide sporgenti, zeppe di granuli ben colorabili coi metodi descritti, dimostrano le cellule principali aventi un nucleo più rarefatto, e meno intensamente colorato di quello delle cellule delomorfe, ed un protoplasma distintamente fibrillare verso il piede della cellula che tocca la membrana propria, spiccatamente spugnoso o reticolare nella parte alta rivolta verso il lume ghiandolare.

Questa struttura altamente caratteristica delle cellule principali si dimostra ugualmente bene col liquido Biondi, come colla ematossilina ferrica o coll'emalume. Colla ematossilina ferrica appare particolarmente distinta la struttura fibrillare del piede della cellula, — anzi qualche volta riesce distintamente bastonci-

niforme. Questo fatto venne già descritto in altre specie di animali specialmente dallo Zimmermann, e perciò noi non ci dilungheremo in ulteriori particolari. Assai raramente siamo riusciti a dimostrare dei centrosomi.

Quando si colorino con rubina e verde metile i preparati fissati con miscela di bicroinato di potassa e acido osmico, allora le cellule principali appaiono colorati in verde oliva, e lasciano anche qui riconoscere la struttura fibrillare del piede, e quella distintamente reticolare del corpo della cellula. Le cellule sono d'ordinario voluminose, espanse, ed il loro interno reticolo presentasi a maglie poligonali notevolmente larghe.

Solo raramente capita di osservare qualche cellula principale compressa e come schiacciata tra due cellule delomorfe, ed allora la prima appare molto più compatta, più intensamente colorata e non lascia più riconoscere l'interno reticolo (tav. 9 fig. 1)..

In talune marmotte uccise a digestione da poco incominciata, abbiamo potuto osservare che talune cellule principali, specialmente verso il fondo delle ghiandole contenevano dei granuli di vario volume e di varia forma, sempre poco numerosi, annidati tra le maglie del reticolo protoplasmatico.

Nelle ghiandole gastriche delle marmotte da lungo tempo dormienti il sonno invernale, (tav. 9, fig. 4) l'aspetto delle cellule principali, su i preparati trattati con miscele osmiche, appare notevolmente diverso. Le cellule sono più piccole, lo stroma protoplasmatico reticolare colorato in verde oliva, presenta maglie molto più ristrette, talvolta anzi, verso il fondo cieco delle ghiandole, le maglie sono così strette da chiudersi quasi intieramente, e da dare un aspetto più omogeneo alla cellula, che appare anche più intensamente colorata. Dentro le maglie si trovano non da per tutto, ma specialmente verso il fondo delle ghiandole, numerosissimi granuli, - che si colorano in rosso, od in rosso violaceo, od in bistro - così che a prima vista riesce non facile distinguere le cellule parietali dalle delomorfe.

I granuli contenuti nelle cellule principali sono di solito più voluminosi e più irregolari, e più variamente colorati di quelli contenuti nelle cellule intercalari.

Questi risultati sono confermati anche dai reperti che si ottengono applicando ai pezzi fissati con liquidi osmici il metodo della ematosilina ferrica, oppure usando il metodo Galcotti.

Coll'ematosilina ferrica i granuli delle cellule principali appaiono ben colorati in violetto nero, e si dimostrano più grossi di quelli delle cellule intercalari, queste si riconoscono tuttavia e per la loro forma, e per la clava o vacuolo ad anello che contengono, e per i loro granuli più minuti e più uniformi, che ad un certo punto della decolorazione appaiono grigi pallidi e tendono a colorarsi debolmente in rosso con la fucsina acida, mentre sono ancora ben neri i granuli delle cellule delomorfe.

Col metodo del Galeotti (tav. 9, fig. 5) i granuli delle cellule principali appaiono ben colorati in rosso al pari dei nuclei, mentre i granuli delle cellule intercalari si dimostrano di colore grigio-giallognolo, e fra essi si distinguono bene i vacuoli e le clave, residue delle vie di secrezione.

Da quanto si è detto risulta che mentre le cellule intercalari, turgide e rigonfie nella veglia, e particolarmente durante l'attività dello stomaco, si rimpiccoliscono, si svuotano, si prosciugano nell'inerzia del letargo invernale: invece le cellule principali, che durante l'attività si spogliano dei loro granuli, e lasciano bene apparire lo stroma reticolare del loro protoplasma, nel letargo accumulano le granulazioni, — che saranno consumate nelle digestioni future.

IX.

Significato fisiologico dei due tipi di cellule ghiandolari.

La funzione di due categorie di cellule componenti l'epitelio delle ghiandole gastriche è altro argomento di controversia. Mentre il Langley e Rud. Heidenhain, in base ai loro studi ed alle loro esperienze fisiologiche, erano venuti nell'induzione che le cellule parietali secernono acido cloridrico, e le cellule principali elaborano il pepsinogeno: il Golgi invece impressionato dalla rete canalicolare delle cellule delomorfe concluse che « tale reperto anatomico è uno dei più validi argomenti comprovanti che l'attività secretoria delle ghiandole peptiche risiede « nelle cellule parietali dello Heidenhain: la reazione nera fornisce un evidente « tissimo carattere della loro attività funzionale, ed include un mezzo per ulteriori più precisi rilievi sul modo e sul tempo di svolgersi delle diverse fasi « della secrezione gastrica ».

Benchè il Golgi non parli delle cellule principali, sembra che per lui la secrezione gastrica sia una funzione esclusiva delle cellule parietali.

D'altra parte, mentre il Luciani (18) nel suo recentissimo trattato di fisiologia riafferma coll'usata sua chiarezza sintetica il concetto dello Heidenhain e lo conforta di nuovi argomenti, il Bunge (19) invece, nel secondo volume del suo trattato, giudica che gli argomenti portati per dimostrare la funzione cloridrogenetica delle cellule parietali, non sieno punto convincenti. Per dilucidare siffatta questione noi abbiamo ripreso i tentativi dello Heidenhain, istituendo delle ricerche comparative sugli stomaci di marmotte in letargo e di marmotte in attività.

Si sa che il rosso Congo diventa azzurro per l'azione di soluzioni allungate di acido cloridrico, e noi abbiamo pensato che forse si poteva tentare la reazione del Congo sulle sezioni ottenute per congelazione da pezzi freschissimi della mucosa. I risultati non furono completamente conformi alla nostra aspettativa, ma ciò non di meno meritano di essere brevemente riferiti. Le sezioni di mucosa ga-

strica in attività, immerse rapidamente a fresco in rosso Congo diluito e lasciatevi per pochi minuti, presentano le cellule principali debolmente colorate in bruno rossastro, e le cellule parietali invece affatto incolore. Noi ci attendevamo di vedere i citosolenuli lievemente colorati in azzurro, ma questo reperto è mancato. Ciò non di meno il fatto che le cellule parietali non hanno assunto il colore rosso, non ci sembra trascurabile.

Abbiamo tentato di applicare alle sezioni ottenute col medesimo metodo, cioè per congelazione, la colorazione coll'azzurro di anilina. Si sa che le sezioni colorate con l'azzurro di anilina si scolorano cogli alcali, e diventano invece molto più intense in contatto cogli acidi deboli. Orbene con questo metodo le cellule principali restano incolore, mentre assumono una debole colorazione azzurra le cellule intercalari.

Abbiamo applicato a fresco anche le soluzioni di nitrato d'argento, sperando di ottenere una precipitazione di cloruro argentico nelle vie di secrezione. Si ottennero radi granuli nel lume ghiandolare, qualcuno anche in corrispondenza dei peduncoli delle cellule parietali, ma l'impregnazione di queste è mancata.

Le ghiandole gastriche di marmotte ibernanti si comportano diversamente, in quanto che non si nota una spiccata differenza di contegno tra le diverse categorie di cellule. Gli elementi tutti si colorano debolmente, ma uniformemente.

Le sezioni tangenziali della mucosa quando sieno spesse, e per così dire macroscopiche, danno una lieve reazione acida visibile ad occhio nudo nella marmotta sveglia, non ne danno affatto nella marmotta ibernante. Quantunque nello stomaco della marmotta in letargo si trovi dell'acido cloridrico, come noi abbiamo dimostrato in altro nostro lavoro (15), tuttavia è logico concludere che la secrezione cloridrica si sospende durante il letargo, e che l'acido, che si accumula nello stomaco, si è elaborato soltanto durante i periodici risvegli.

La struttura delle cellule delomorfe, l'esistenza in esse di una rete capalicolare, il fatto che esse si inturgidiscono durante l'attività, e si mantengono attive per tutta la durata della digestione gastrica, dimostra che esse elaborano un secreto liquido, e che se ne liberano di mano in mano che lo producono, senza mai accumularne neppure una piccola quantità. Nel letargo esse non funzionano affatto, e perciò impiecioliscono, si svuotano e si prosciugano; esse non accumulano mai il loro prodotto, e ciò si comprende facilmente data la costituzione chimica del prodotto medesimo, che condensato dovrebbe intaccare la cellula. Tale concetto risulta avvalorato dalla debolezza o mancanza delle reazioni microchimiche tentate: esse infatti confermano che la secrezione acida deve essere estremamente diluita, e deve eliminarsi di mano in mano che viene prodotta. Così che ben poco materiale rimane per poter dare una evidente reazione microchimica.

Ciò spiega i fatti opposti che si osservano nelle cellule ghiandolari fresche e in quelle fissate e conservate in liquidi diversi. Abbiamo detto che nei preparati in congelazione le cellule delomorfe non si colorano col Congo, mentre si

colorano coll'azzurro di anilina. Nei preparati conservati avviene il fatto inverso: sono precisamente le cellule adelomorfe che si colorano col Congo. Questo fatto ci dice che una volta cessata la produzione cloridrica ed estratta ogni traccia di acido, rimane un protoplasma spiccatamente alcalino, che evidentemente contiene un alcali fisso, la cui reazione nel tessuto fresco è mascherata dall'acido in via di formazione.

Il Bunge (19) dice che non c'è nulla di misterioso nella produzione di acido cloridrico da parte delle cellule epiteliali: sarebbe invece un enigma la facoltà che presenta la cellula di poter spingere l'acido libero sempre nella stessa direzione, verso il lume ghiandolare, e di restituire invece la base dall'opposto lato, nelle vie linfatiche e sanguigne. Noi ci sentiamo molto mediocri nell'arte dell'enigmistica, ciò non di meno ci sembra che il fatto annunciato possa avere una spiegazione anatomica. I citosolenuli, che tendono ad impiccolire di mano in mano che diminuisce l'attività cellulare, costituiscono un sistema di drenaggio, per il quale il liquido acido viene meccanicamente allontanato di mano in mano che è prodotto. Il sale sodico, rimasto nel protoplasma cellulare, deve poi essere lentamente restituito alla circolazione per scambi osmotici attraverso alla membrana cellulare.

Poche parole aggiungeremo circa le cellule principali a conforto delle nozioni concordemente risultanti dalle belle ricerche dello Heidenhain e del Langley. Le variazioni che presentano le cellule principali, il fatto che i granuli si accumulano in esse durante il riposo, e si eliminano invece nell'attività, sta in perfetto accordo con le esperienze fisiologiche circa la produzione della pepsina. L'analogia delle cellule principali con le cellule delle ghiandole piloriche, che elaborano pepsina, convalida il concetto, che i granuli accumulanti nel riposo sieno precisamente granuli pepsinogeni.

X.

Conclusioni.

I. - Nella mucosa gastrica della marmotta manca la regione detta delle ghiandole del cardias: in corrispondenza di questo si nota solo un sottilissimo anello ghiandolare, i cui pochi tuboli sono privi di cellule delomorfe. Nello stomaco si hanno soltanto due territori principali: la regione delle ghiandole peptiche o *glandulae gastricae propriae* molto estesa, e la regione molto più limitata delle ghiandole piloriche.

Nel primo territorio però si possono distinguere due zone: una prossima al cardias, dove le ghiandole sono larghe con cellule principali molto alte, a protoplasma chiaro e nucleo schiacciato sul fondo, e con cellule intercalari poco nu-

merose, non mai a contatto col lume ghiandolare, ma spinte a ridosso della membrana propria. L'altra zona, o zona del fondo p. d., presenta ghiandole più lunghe e più strette con cellule delomorfe molto numerose, e cellule principali più basse, talora granulose.

II. - Nella regione del fondo si trovano anche ghiandole ramificate, con tubi secondari anastomizzati fra loro; fatto analogo a quello descritto finora soltanto nel cavallo (Zimmermann).

III. - Le ghiandole gastriche proprie, della marmotta in letargo, sono molto più ristrette di quelle della marmotta sveglia, le differenze di diametro delle ghiandole varia da 18-30 micromill. (nel letargo) a 44-50 micromill. (nell'attività). Durante il letargo tutti i nuclei sono in riposo: mancano le cariocinesi in corrispondenza dei colletti ghiandolari, frequentissime nelle marmotte sveglie.

IV. - Le cellule delomorfe non diminuiscono di numero nel letargo, ma sono molto più piccole che nell'attività, e si trovano sulla stessa linea delle cellule principali. Durante l'attività le cellule delomorfe diventano molto più voluminose e sporgono con tutto il loro corpo sotto la membrana propria della ghiandola, mentre spingono il loro colletto o peduncolo, tra le cellule principali, verso il lume ghiandolare,

V. - I canalicoli di secrezione o citosolenuli delle cellule delomorfe nella marmotta in attività formano elegantissimi canestri canalicolari, riuniti al lume ghiandolare per un peduncolo. Nella marmotta in letargo invece i citosolenuli sono molto ridotti e formano delle clave o degli anelli talora semplici, più raramente multipli in corrispondenza di ciascuna cellula delomorfa. In ogni modo i citosolenuli non scompaiono totalmente nel letargo, ma si riducono soltanto: debbono quindi considerarsi come una *formazione stabile* della cellula delomorfa.

VI. - I citosolenuli tanto nella attività come nel letargo sono sempre totalmente endocellulari, essi per altro non presentano una membrana propria: sono vie scavate nel protoplasma cellulare. Il peduncolo, che unisce la cellula al lume e forma le pareti del dotto escretore della cellula, è una continuazione della membrana cellulare.

VII. - Le cellule delomorfe hanno una ben distinta membrana cellulare che le delimita, e può ottenersi colorata in modo diverso rispetto al protoplasma cellulare; presentano uno o due nuclei quasi sempre in riposo nell'animale adulto, ed un protoplasma costituito di granuli ben colorabili col Congo nei pezzi fissati con sublimato, e con la rubina nei pezzi fissati con liquidi osmici. Le principali differenze che presentano tra il letargo e l'attività consistono essenzialmente nell'ingrandimento loro e nella dilatazione delle vie intracellulari di secrezione. Non

presentano variazioni sensibili nella costituzione del loro protoplasma. Da ciò risulta ancora una volta confermato il concetto che la cellula delomorfa non è una trasformazione della cellula principale, ma un elemento autonomo e specifico.

VIII. - Le cellule principali presentano notevoli variazioni passando dal riposo all'attività, variazioni che dimostrano la loro compartecipazione alla secrezione gastrica. Durante la digestione prolungata le cellule principali si presentano chiare con protoplasma reticolare; nel riposo invece si riempiono di granuli che appaiono ben dimostrabili con speciali reagenti.

IX. - Dal complesso delle osservazioni e delle esperienze risulta per noi asodato il concetto che le cellule delomorfe elaborano l'acido cloridrico in soluzione diluitissima, e che lo eliminano di mano in mano che lo producono. Questa funzione si sospende completamente nel letargo. Le cellule principali elaborano invece dei granuli pepsinogeni, che si accumulano lentamente nel riposo e vengono invece eliminati al principio della digestione.

Bibliografia

La letteratura intorno alla mucosa gastrica dei Mammiferi è straordinariamente ricca, e per riferirla noi dovremmo qui occupare parecchie pagine. Ma poichè un elenco bibliografico esattissimo fino al 1896 è già stato raccolto dall'Oppel nel suo eccellente trattato, così noi rimandiamo a quello il lettore, e ci limitiamo ad indicare qui soltanto i lavori fondamentali e quelli più recenti, venuti alla luce dopo la pubblicazione dell'Oppel.

- (1) KOELLIKER. *Mikroskopische Anatomie*. Vol. II, pag. 14. Leipzig, 1850.
- (2) RUD. HEIDENHAIN. *Untersuchungen über den Bau der Labdrüsen*; in: Arch. Mikr. Anat. Vol. VI, pag. 368-406, 1870.
- (3) A. ROLLETT. *Bemerkungen zur Kenntniss der Labdrüsen und der Magenschleimhaut*. — Unters. Instit. Phys. Histol. Graz, fasc. 2, pag. 143-193, 1871.
- (4) J. N. LANGLEY. *On the Histology and Physiology of Pepsin-forming Glands*; in: Phil. Trans. Vol. 172, parte terza, pag. 663-711, 1881.
- (5) ID. *On the Histology of the Mammalian Gastric Glands and the relation of pepsin to the granules of the chief cells*; in: Journ. Phys., Vol. III, pag. 269-291, 1882.
- (6) G. BIZZAZERO. *Su le ghiandole tubulari del tubo gastro-enterico e sui rapporti del loro epitelio con l'epitelio di rivestimento della mucosa*. — Nota quarta in: Atti Accad. Sc. Torino, Vol. 27, pag. 891, 1892.
- (7) ID. *Su le ghiandole tubulari del tubo gastro-enterico ecc.* — Nota settima in: Atti R. Accad. Sc. Torino. Vol. 28, pag. 233, 1893.
- (8) ERIK MUELLER. *Zur Kenntniss der Labdrüsen der Magenschleimhaut*; in: Biol. Förenings förhandlingar, Bd. IV, fasc. 5, 1892.
- (9) ID. *Om Inter och intracellulära Körtelgangar*. Akademisk Afln. Stockholm, Samson och Wallin, 1894.
- (10) ID. *Drüsen studien II*; in: Zeit. Wiss. Z., Vol. 64, pag. 624-647, Leipzig. 1898.

- (11) K. W. ZIMMERMANN. *Beiträge zur Kenntniss einiger Drüsen und Epithelien*; in: Arch. Mikr. Anat. Vol. 52, pag. 552-706, Bonn 1898.
- (12) C. GOLGI. *Su la fina organizzazione delle ghiandole peptiche dei Mammiferi*; in: Rend. Soc. Med., Pavia 1893.
- (13) v. BRUNN. *Verdaunungsorgane*. Ergeb. Anat. Vol. 3. Wiesbaden 1894, pag. 238.
- (14) A. OPPEL. *Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbelthiere, Erster Theil, Der Magen*. Jena, Fischer 1896-98.
- (15) RINA MONTI. *Su la morfologia comparata dei condotti escretori delle ghiandole gastriche nei vertebrati*; in: Boll. Scient. N. 2-3. Pavia 1898.
- (16) ACHILLE e RINA MONTI. *Osservazioni su le marmotte ibernanti*; in: Rend. Ist. Lomb., Serie 2, Vol. 33, 1900.
- (17) C. ASCOLI. *Il meccanesimo di formazione della mucosa gastrica umana*; in: Arch. Sc. Med. Vol. 24, N. 12, Torino 1901.
- (18) L. LUCIANI. *Fisiologia dell'uomo*. Trattato didattico. Società editrice libraria Milano, 1891.
- (19) G. v. BUNGE. *Lehrbuch der Physiologie des Menschen*. Secondo volume, pag. 170 e 173. Leipzig, Vogel 1901.
-

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE 8 e 9.

Tavola 8.

- Fig. 1. Fondo cieco di una ghiandola gastrica di marmotta sveglia, uccisa al principio della digestione. Metodo Golgi. Oculare comp. 6, obb. $\frac{1}{15}$ semiapocromatico Koritska, tubo a 16. Dimostra i canestri canalicolari delle cellule delomorfe, ed il loro peduncolo o condotto escretore, che sbocca nel lume del tubo.
- Fig. 2. Porzione di ghiandola gastrica in corrispondenza della grande curvatura del fondo. Metodo Golgi, ingrandimento come sopra. Dimostra le ramificazioni e le anastomosi dei tuboli ghiandolari secondari. Ricorda un fatto analogo osservato da Zimmermann nel cavallo.
- Fig. 3. Porzione inferiore di ghiandola gastrica di marmotta in letargo. Metodo Golgi, ingrandimento come sopra. Si vede come i tuboli ghiandolari sieno rimpiccoliti, più ristretto il lume centrale del tubolo ghiandolare; le vie di secrezione delle cellule delomorfe molto semplificate, in alcuni punti ridotte a semplici clave endocellulari, altrove in forma di anelli semplici o composti.
- Fig. 4, 5, 6. Impregnazioni complete di ghiandole gastriche nella marmotta in letargo. Metodo Golgi. Oc. 3, obb. 5 Koritska, tubo a 16. Dimostrano il diverso modo di presentarsi delle ghiandole gastriche proprie nel letargo e danno un'idea d'insieme della riduzione dei citosolenuli.

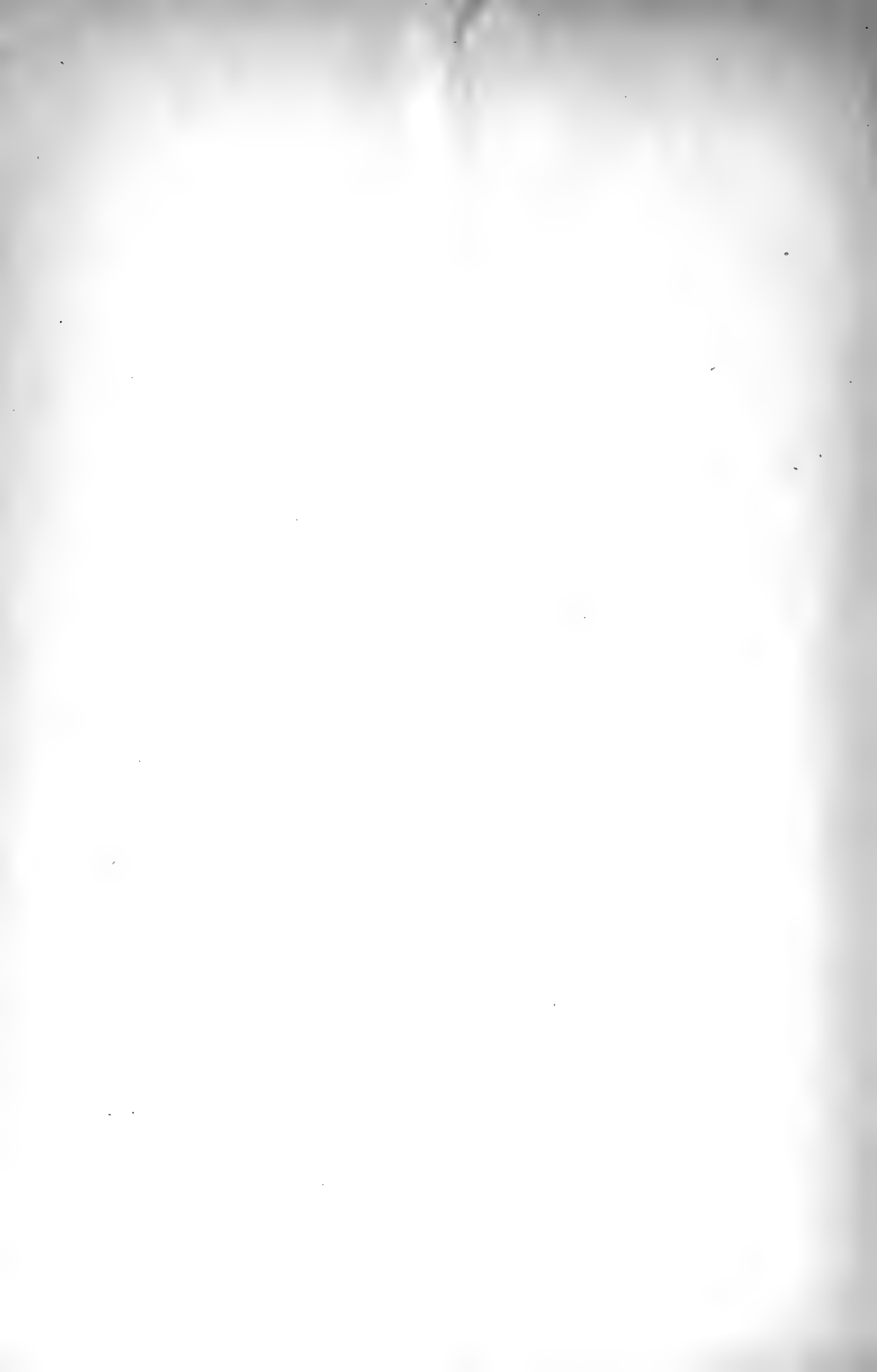
Tavola 9.

- Fig. 1. Sezione trasversa presa presso il fondo cieco di ghiandola gastrica della marmotta in attività. Fissazione in miscela osmio-bicromica. Colorazione con rubina e verde metile. Zeiss, oc. 3, obb. $\frac{1}{18}$, tubo a 16. Dimostra la struttura delle cellule principali durante l'attività prolungata: fa vedere una cellula delomorfa col suo condotto escretore e colle vie di secrezione endocellulari.
- Fig. 2. Gruppo di cellule delomorfe colorate ed ingrandite come sopra. Si riconosce nettamente la membrana cellulare, che si colora come il peduncolo, o condotto escretore della cellula. Le vie di secrezione intracellulari appaiono ben distinte, come canali scavati nello spessore del protoplasma a granuli colorati in rosso.
- Fig. 3. Sezione trasversa di ghiandola gastrica in attività, impregnata col metodo Golgi e poi colorata con safranina (procedimento Zimmermann). Oc. 6 comp., obb. $\frac{1}{15}$ Koritska. Dimostra che i canestri canalicolari sono totalmente endocellulari. Confrontisi questa figura colla sottostante fig. 6.
- Fig. 4. Sezione obliqua di ghiandola gastrica di marmotta in letargo. Colorazione ed ingrandimento come nelle fig. 1 e 2. Dimostra l'impiccolimento delle cellule delomorfe, la riduzione delle loro interne vie di secrezione (citosolenuli), e le cellule principali aventi un protoplasma reticolare, nelle cui maglie si annidano numerosi granuli. Si notino le differenze rispetto alla fig. 1.

- Fig. 5. Sezione obliqua di ghiandola gastrica da una marmotta in letargo. Fissazione in liquido Hermann, colorazione metodo Galeotti. Ingrandimento come sopra. Si notano gli stessi fatti dimostrati dalla figura precedente, rivelati con altro metodo di colorazione. Tipici i citosolenuli delle cellule delomorfe, i granuli delle cellule delomorfe appaiono più spiccati, perchè colorati in rosso.
- Fig. 6. Ghiandola gastrica da marmotta in letargo; colorazione ed ingrandimento come in fig. 3. Dimostra come le vie di secrezione endocellulari nel letargo sieno molto ridotte, ma non scompaiano mai completamente.
- Fig. 7. Estremità di un tubolo gastrico da marmotta in letargo. Fissazione in sublimato alcoolico-acetico-cloroformico; colorazione col liquido Biondi, ingrandimento come sopra. Dimostra, in confronto della successiva fig. 8, come il lume ghiandolare siasi ristretto, le cellule delomorfe impiccolite, con vacuoli anulari o claviformi, divenute totalmente intercalari sullo stesso piano delle cellule principali.
- Fig. 8. Da marmotta sveglia uccisa durante la digestione. Fissazione e colorazione come nella figura precedente. Dimostra la dilatazione del lume, l'ingrossamento e lo spostamento delle cellule delomorfe, che da intercalari sono diventate parietali.

*Ricerche fatte nel Laboratorio di Anatomia normale della R. Università di Roma
ed in altri Laboratorî biologici, Vol. IX, fasc. 2-3 — 1902.*

Estratto



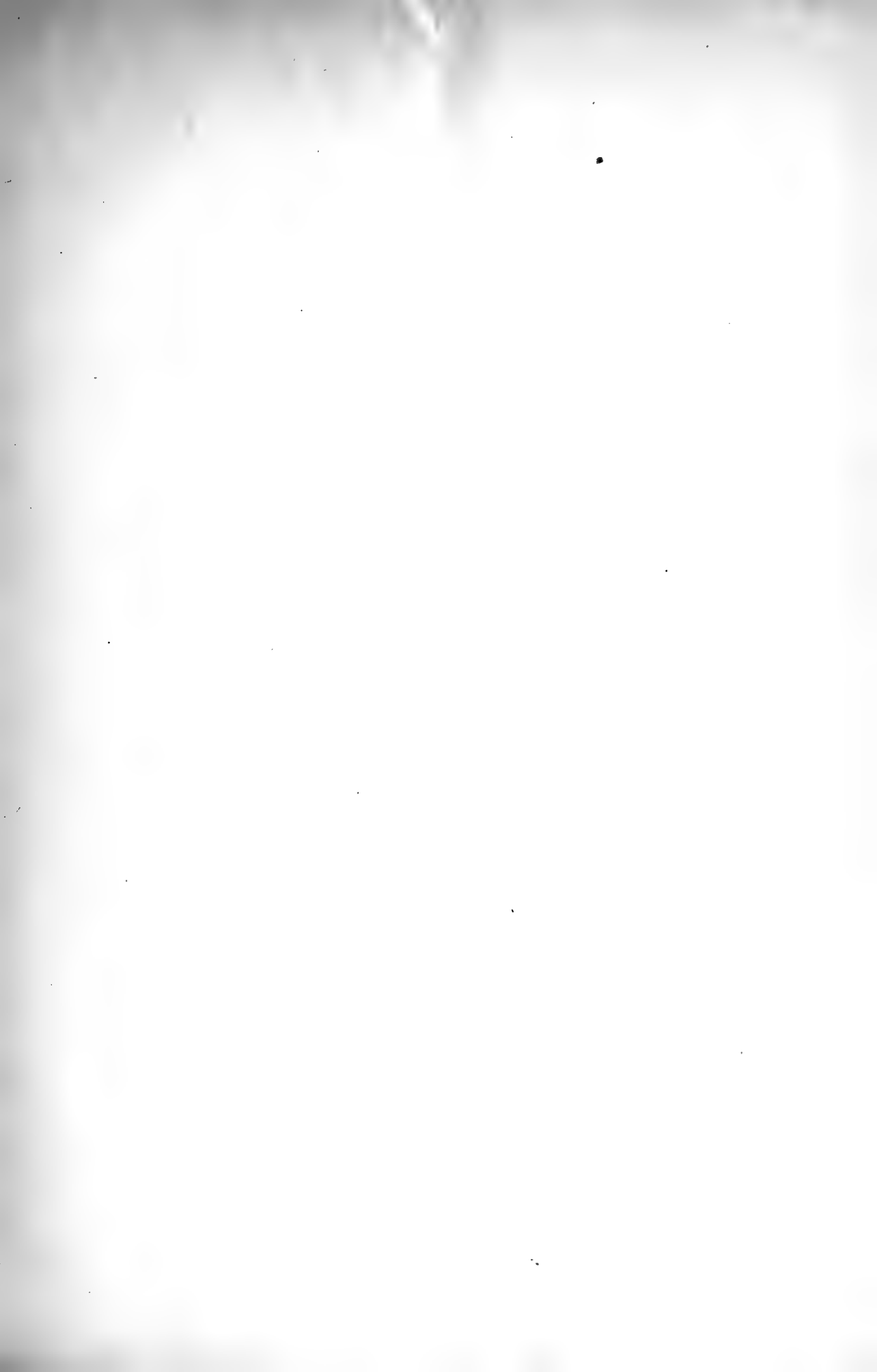




Fig. 1

1976

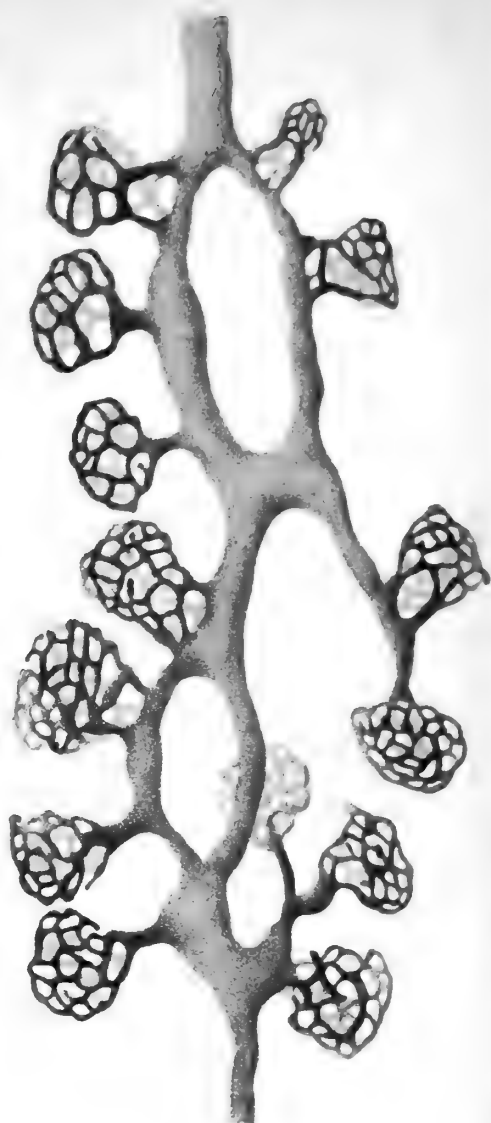




Fig.1.

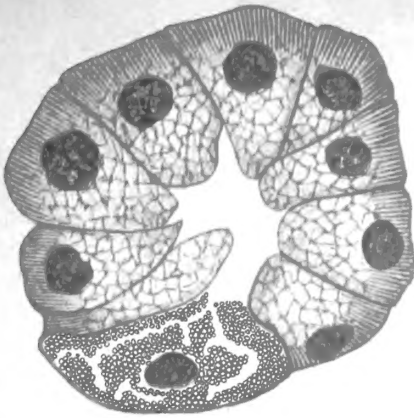


Fig.2.

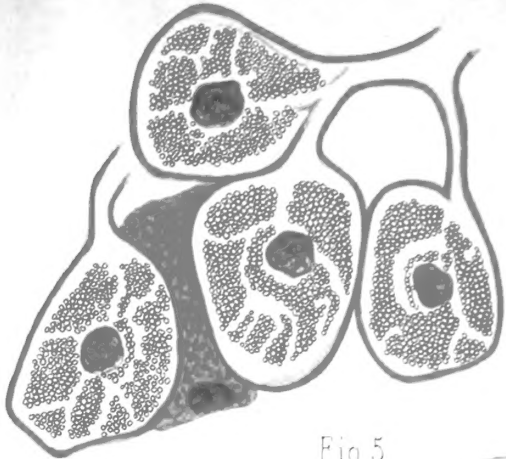


Fig.3.

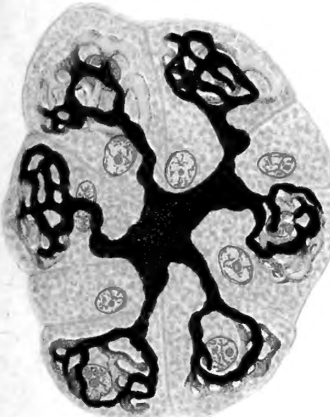


Fig.4.

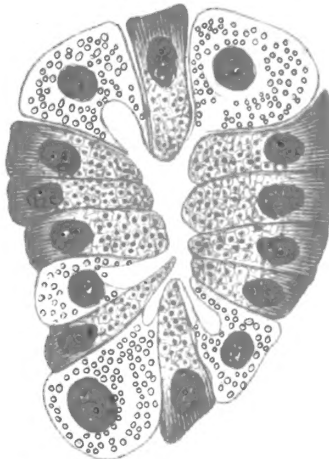


Fig.5.



Fig.6.

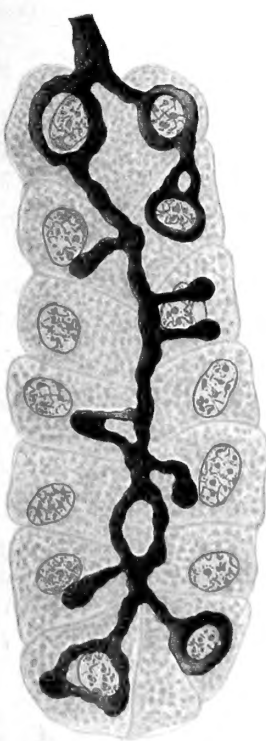


Fig.7.

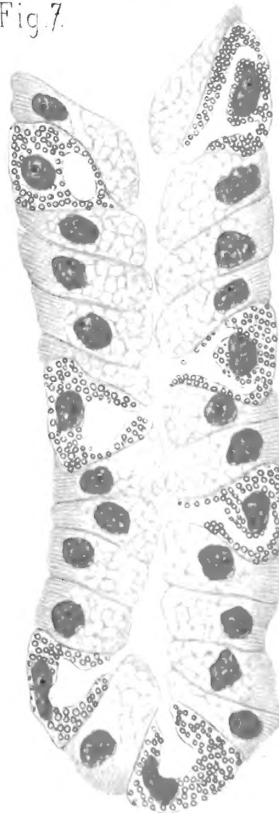
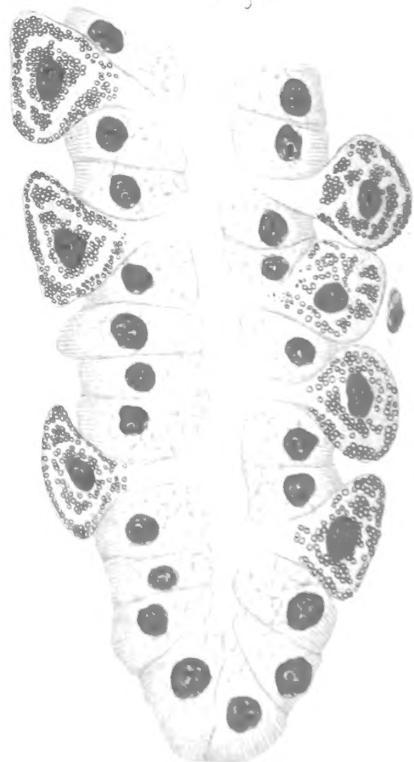


Fig.8.



Date Due

--	--

